グラム陰性桿菌の表面構造とその生物活性物質

1. 緑膿菌の表面構造について

本 間 遜 ・ 鈴木奈智子 ・ 伊藤ふみ子

東 大 伝 染 病 研 究 所

[受付: 1月13日・1961年]

はじめに

細菌の表面構造に関する研究は最近急速に進められているが、これは電子顕微鏡技術、微量分析法の進歩と共に、菌を破壊して構成成分を自然な状態で分離する方法が見出されたため、漸く形態学と細胞化学の橋渡しが可能になつて来た観がある。

リゾチームによるプロトプラスト形成、ペニシリン、其他抗生物質によるL型変換は古くから知られている PPLO と共に、細菌の細胞質被膜（私共のプロトプラスト表面物質^{註1)}）の構造と機能に関する多くの問題を提供している。

細胞壁（私共の細菌表面物質とは異なる、註1参照）構成成分としては新しく Diaminopimelic acid (DAP)¹⁾, muramic acid²⁾, teichoic acid³⁾, が見出され、これと同時にO抗原には新しい dideoxy 糖⁴⁾ も次々に発見された。

ペニシリンによる細菌のL型変換の研究は更に細胞壁生合成の化学的研究に発展し、その結果グラム陽性菌の細胞壁の基本的構成成分の合成経路模型⁵⁾ が示される程になった。しかしグラム陰性桿菌の表面構造の研究は陽性菌に比べて複雑なためにまだ充分に行はれていな

い⁶⁾。

緑膿菌については、autolysate 中の内毒素の化学的構成およびそれらと菌体からの従来の Boivin 抗原との関係が明かにされているので⁷⁾、今回はこの内毒素の血清学的、生物学的、化学的性状をもととして、菌体構成成分を追究し、まず菌の何れの部位に内毒素が位置して、どんな化学構成と生物活性を持っているかについて研究を行った。ついで知りえた実験結果にもとづき、緑膿菌の表面構造の模型を想像した。

実験材料

菌株 *Pseudomonas aeruginosa* の土島株、PI-III、で私共の分類でA型に属する株を使用した。

培地、グルタミン酸ソーダ	2	%
グルコース	0.5	%
Na ₂ HPO ₄ ・12H ₂ O	0.563	%
KH ₂ PO ₄	0.0252	%
MgSO ₄ ・7H ₂ O	0.01	%
Ca(NO ₃) ₂	0.001	%
FeSO ₄ ・7H ₂ O	0.000005%	

pH 7.6

培養

(1) 振盪培養 500cc容量の振盪コルベンに200 ccの合成培地を入れ、37°C、18時間振盪する。

(2) タンク培養、容量30lのタンクに9lの合成培地を入れ、あらかじめ振盪培養した3lの全培養を加え37°Cで攪拌3l/分の通気を行う。(図1)

註1) 細胞壁 (Cell Wall) という言葉は研究者によつてその内容を異にしている。多くの研究者は protease 等を作用し RNA を含む Cytoplasmic membrane を除いたものを cell wall としている。私共は菌体よりプロトプラズムを除いたものを表面物質 (Bacterial surface substance: BS) とした。同様な考え方から従来のプロトプラスショクケイトをプロトプラスト表面物質 (Protoplast surface substance: PS) とした。これは Cytoplasmic membrane 或は Protoplast membrane と従来考えられていたものである。後に述べるように私共は Protoplast membrane を二つの層、Comp. III, Comp. IV に別けた。

HOMMA J. Yuzuru, SUZUKI Machiko and ITO Fumiko: Studies on the Bacterial Surface Structure of Gram-negative Bacteria and its Biological Active Substances. I. The Bacterial Surface Structure of *Pseudomonas aeruginosa*. (The Institute for Infectious Diseases).—Jap. J. of Bact., 16 (7), 579-590 1961.

図 1. タンク培養における菌の増殖

表 1. 緑膿菌内毒素の精製

内毒素

(1) Original endotoxin 表1のように、緑膿菌を合成培地にうえ、タンク培養を行い、トルエンを加えて

autolysis をおこさせ、その autolysate に塩化亜鉛を加え、沈澱を集め、磷酸ソーダ液に溶解して亜鉛をはづして濃縮する、流水透析後、アセトンで沈澱して、電気透析を行い塩基性物質を陰極側に離す。内液の精製された毒素はチゼリウス電気泳動で単一な物質として得た⁷⁾。

(2) Comp. I (lipopolysaccharide-protein-complex)

(イ) Original endotoxin をゾーン電気泳動で別け図2の山を生食抽出し、硫酸安全飽和で沈澱させ、流水透析の後、凍結乾燥した。この時同時に Comp. II (RNA-DNA-

図 2. original endotoxin の電気泳動図

polyribose phosphate) も得たが、これらの物質は図3の如く電気泳動、超遠心分析で均一である。autolysate 中には Comp. I 以外の特異有毒抗原物質は見出されない⁷⁾。

(ロ) Comp. I は酸性イオン交換樹脂に対して、酸性で吸着し、弱酸性乃至中性で溶出し、吸着溶出前後で化学的・生物学的性状の変化がないので、表2の方法で濃縮透析された autolysate からの毒素液を Dowex50 とアルカリ性で振盪し、ついて濾液を酸性で XE64 (H型) と攪拌して、Comp. I を吸着させ、よく洗ってアルカリ液で溶出して得た⁷⁾。

(3) Comp. I-ph (lipopolysaccharide) Comp. I を石炭酸処理した。即ち 0.5%Comp. I 水溶液に同量の90%石炭酸を加え、65°C, 45分攪拌し、水層を流水透析、凍結乾燥した。菌体から分離した Boivin 抗原を同様処理したものと化学的、生物学的に同じ性状を示し、血清学的に抗原特異性を同じくすることは前報に記載した⁷⁾。

(4) Orig.endot. P 又は Com. I-P (Protein) Original endotoxin をプロパノール処理して得た。超遠心分析およびゾーン電気泳動で均一である(表3)。詳細は後報するが、発熱性および Schwartzman 活性を有する。Comp. I-ph とは抗原特異性を異にしている蛋白質部分である。

以上の実験材料調製の概略は図4を参照されたい。

表 2. 緑膿菌内毒素の精製

抗血清, ウサギの皮下に総量10—20mg を 3 カ月乃至 6 カ月間注射し, 採血して抗血清とした。

酵素

リゾチーム: 卵白より結晶化したもの

ナガーゼ: B. Subtilis の結晶プロテアーゼ, 帝国化学産業 K.K.

実 験

細胞構成成分の分離

I. 細菌表面物質 (BS) の分離 (註 1)

タンク培養により集めた対数期の湿菌体 1 g に対し, 充分水洗し乾燥したカーボランダム 7 g を加え, 乳鉢ですりつぶし, 位相差顕微鏡で菌体内容の流出を確め, 蒸留水を加えて分割遠心を行い, 各分割を水洗 3 回反覆して表 4 のように別けた。操作はすべて低温で行った。

これらの方法で 906 g 以下の分割は菌体を含むために DNA を含有するが, 次に表面物質がえられ, 最後にプ

表 3 内毒素 (Original Endotoxin) よりその蛋白部分の分離精製

図 4

緑膿菌内毒素抗原の分離方法

DNase: Nut. Bioch. Co. U. S. A. Cryst.

RNase: Nut. Bioch. Co. U. S. A. Cryst.

カーボランダム: 不二見研磨工業株式会社

(名古屋) #3000

表 4. カーボランダム破壊菌体構成成分

		N	P	RNA-P	DNA-P
		%	%	γ/mg	γ/mg
Bacteria				22.0	3.3
Ppt. 1	906 g	10.0	2.4	17.3	2.5
Ppt. 2	2516 g	8.0	2.2	7.1	0
Ppt. 3	4930 g	7.8	2.0	4.3	0
Sup.		13.8	1.8	53.3	7.8

ロトプラスムの多量のDNAを含む分割が残る。従つて以下の実験には2500~4900 gの分割を使用した。図5はカーボランダムでえられた表面物質で、乾燥菌体の約50%に相当する。この物質をBSと略記した。

II. プロトプラスト表面物質 (PS) およびプロトプラスムの分離精製(註1参照)。

(1) 生菌に対するリゾチームの作用

対数期の菌を集め、蒸留水で洗った後、pH 8.0, M/20 トリス緩衝液に浮かべ、4倍稀釈したものが、Coleman 分光光度計で0. D.=0.5 を示す濃度にした。これに終濃度 150 γ /cc にリゾチームを加えて後、終濃度が5 $\times 10^{-3}$ M になる様にEDTAを入れ溶菌させた。図6の如く、室温で(10~15°C)で5分以内に溶菌する。

図 6 緑膿菌に対するリゾチーム, EDTA の作用

プロトプラストは KCl 或は蔗糖を溶液に 0.5M に加えてからリゾチーム作用を行う事により形成された。

(図7)

(2) プロトプラスト表面物質 (PS), およびプロトプラスムの分離精製。

そこで表5に示したように、湿菌体に高張でリゾチームを作用させ、プロトプラストを作り、よく洗浄後蒸留水を加えて外囲の滲透圧を下げ、ショックイト、即ちプロトプラスト表面物質 (PS) とプロトプラスムを分別した。

表 5. Protoplast 表面物質 (PS) の調製

その位相差顕微鏡像は図8で、内容の流出が観察出来る(尤も位相差であるから焦点のあつた部分のみを見ていたゞきたい)。電子顕微鏡写真は図9で、二層の膜が認められる。内側の電子線透過のやや悪い膜はサイトプラスムに接した膜と考えられる。

このプロトプラスト表面物質 (PS) を M/30 磷酸緩衝液 (pH 7.1) に懸濁し、ナガースを作用させると、アミノ窒素の増量と共に PS に含まれる RNA の90%以上

表 6 Protoplast 表面物質 (PS) に対する Nagarse の作用

Protoplast 表面物質 (PS) 200mg.
M/30 phosphate buffer, pH 7.1

が遊離する。表6にその処理を記したが、不溶部 PSNS は形態学的に尚形を保っている。ウンナパッペンハイム染色ではPSは濃い青色に染まるが、PSNSは淡紅色が強い、図10では同形として認められるが、電子顕微鏡では二層の膜が明瞭に確認された(図11)。従つて私共は外側を Component IV、内側を Component III とした。

このプロトプラスト表面物質(PS),とプロトプラスムに石炭酸処理を行つたが、Comp. I の lipopolysaccharide はえられなかつた。また Comp. I の抗血清との沈降反応では、生菌よりのリゾチム溶出部分のみ強く陽性であつた。

またPSは乾燥菌体(湿菌体の17%)の約25%の収率でえられた。

Ⅰ. 表面物質(BS)の酵素による分解(図12参照)

(1) 表面物質(BS)に対するリゾチムの作用

先づ、BSにリゾチムを作用させる場合、生菌と同様に図13に示した如くEDTAの必要を認めた。表7の操作でリゾチム可溶性の物質(LS)と不溶性物質(LP)を別けた。

LSは抗 Cph 血清と反応する、即ち重層法で10~20 γ/cc 稀釈迄陽性である。しかし電気泳動では容易に凝集し、ゾーン電気泳動でも原点にとどまつて移動しない(LSZ)。この際 Folin 反応及び Orcin-HCl 反応陽性物質は原点以外に見出されない。

(2) ナガーゼの作用

BS, 100 mg を M/15 磷酸緩衝液(pH 7.1) 10 cc に

図12 緑膿菌細胞および表面物質構成成分の分離

溶かし、5000 UPN のナガーゼを作用させる。フォルモール滴定で遊離アミノ窒素の増量を認めなくなつてから(図14), 4930 × g で遠心し上清(NS)と沈澱(NP)

図13 緑膿菌表面物質(BS)に対するリゾチム, EDTA の作用

表7. 表面物質(BS)よりLSの分離

BS	1000mg	蒸留水	100cc
		M/20Tris buffer	100cc
lysozyme	60mg	蒸留水	100cc
EDTA	640mg	M/20Tris buffer	100cc
15時間 5°C

図14 緑膿菌表面物質(BS)に対するナガーゼの作用

フォルモール滴定によるBS 1 mg 当りのアミノ窒素の増量を縦軸に示した。

をそれぞれ流水透析の後凍結乾燥した。先にプロトプラスト表面物質(PS)のナガーゼ処理で、大部分のRNAが溶出されることを述べたが、BSでもRNAが約84%水溶性になる。このRNAの分離は従来石炭酸処理で不

図 16 NP にナガーゼを作用させたもののゾーン電気泳動

澱粉。ペロナル緩衝液 (pH 8.6, $\mu=0.05$)
○-○-○ Folin-Ciocalteu 反応
●-●-● Orcin-HCl 反応

可能であつたものである。この処理で形態学的にまだ桿菌状を示していたBSは不定型の塊となる。(図5, 15)
(3) ナガーゼ作用の不溶部(NP)に対するリゾチ

ーム作用。
NPに(1)と同条件でリゾチームを作用させた結果、ほとんど水溶性になった。これをNPLSと記したが、ゾーン電気泳動を行うと Orcin-HCl 反応陽性の山が3つ得られ、内Iのみが抗原物質で他は透析によって失はれた。Iの収量は17%で、NPLSZとした。(図16)

表 9 LS より蛋白部分 (LSAS) の分離

表 8 緑膿菌内毒素、表面物質構成成分の化学分析および血清学的特異性

Original material	Treatment	Separated material	Yield (%)	N (%)	P (%)	DAP	Histidine	Precipitin reaction
BS	Lysozyme	LS	52	9.3	2.1	+	+	16,000 (Comp.I)
	"	LSZ	39	10.6	2.2	+	+	
	"	LP	22			-	+	
	Nagarse	NS	9	9.8	2.9	+	-	16,000 (Comp.I)
	"	NP	58	5.8	2.2	+	-	4,000 (Cph)
NP	Lysozyme	NPLS	72	7.1	2.5	+	-	128,000 (Cph) (Cph-P)
	"	NPLSZ	17	6.6	2.6	-	-	1,000 (Z-ZIW) neg.
	"	NPLP	3					256,000 (Comp. I)
LS	Nagarse	LSNS	22	7.6	3.5			
	"	LSNP						
Comp. I	Nagarse	Comp. I-NS	47	5.1	2.3			
		Comp. I		6.2	2.9	-		128,000 (Cph) (Comp.I)
		Comp. I-ph		3.8	3.2			256,000 (Cph) (Comp.I)
		Comp-I-P		13.1	1.6	-	+	16,000 (Comp. I)
Bacteria	Lysozyme	PS	25	10.1	1.9			
PS	Nagarse	PSNP	14	7.9	1.5			

括弧内は抗血清の種類を示す。CpH-P は糖脂質特異抗血清。Z-ZIW は蛋白質特異抗血清。

NPLSZはComp. I 抗血清と4γ/ccで沈降反応陽性であった。又NPLSに含まれていたDAPはNPLSZには含まれない。

(4) リゾチーム作用の不溶部(LP)に対するナグーゼ作用。

LPはプロトプラストショックイトに相当するわけである。この場合の結果は前述Ⅱ(2)に相当する。

以上の実験で得られた物質の化学分析値および血清学的特異性を表8にまとめたが、BS中にはリゾチームによつて水溶性になる部分LSとプロトプラスト表面物質(PS)が略等量含まれて居り、LS中にComp. Iがあることは血清反応および化学処理の結果から結論されるわけ、次項において実際にLSより内毒素Comp. Iの構成成分の分離を試み、その化学的・生物学的性状の比較を行つた。

内毒素の追跡

I. 蛋白部分 Orig. endot. P の追跡

表9に示した方法でpH7のlower phase solvent 180ccを、1.4%LS水溶液に4.5ccのプロパノールを加えた液に攪拌しながら入れ、2時間室温で放置して翌日迄氷室に保存し、蛋白部分を沈澱させた。遠心で集めた沈澱は20ccの混合溶液で洗い水に懸濁して流水透析の後、凍結乾燥した。pH 8.6で遠心して更に精製したが稀アルカリに溶け、超遠心分析で一つの山を示した。LSASとした。

抗Orig.endot.P血清と沈降反応陽性で内毒素Comp. Iの蛋白質部分を含んでいると考えられる。そこで抗LSAS血清、抗Orig.endot.P血清と抗原LSAS, Orig. endot.Pの間で吸収試験を行つた。血清は吸収すべき抗原を加え37℃に2時間、5℃に1日おき、遠心して上清に反応する抗体のないことを証明して使用した。

その結果Orig.endot.P, LSASは沈降反応による抗原特異性は全く共通であった。

pyocine 活性は1%普通寒天2ccに $10^5 \sim 10^6$ の感性菌を混ぜ、経9cmの普通寒天平板上に流して固めた後1滴をたらして37℃に1日おき、その発育阻止帯を観察して判定するがLSAS及びOrig.endot.Pは0.08γで陽性である。BSにはpyocine 活性はなく、リゾチーム作用で可溶性のLS及びLSASになつてはじめて活性が発現する。

抗LSAS血清はLSASのpyocine 活性を41,000倍まで中和する、また抗LSAS血清は濾液中のpyocine を完全に中和する。

内毒素の有毒因子とされているComp.I-ph が強い

Shwartzman 活性を示すことは前報で報告したが、Orig. endot.Pにも活性が見出された。Orig. endot.P, LSASについて実験を行つた結果、準備最小量0.2γでⅢ度の陽性を示し、対照としたComp. I-ph と強さにおいてほとんど相違がない。

Orig. endot.Pに3γの発熱性があることからLSASも発熱試験を行い、同じ3γの発熱性を示す結果を得た。(発熱性については続報で詳細を発表する)

Ⅱ. 糖脂質部分 Comp. I-ph. の追跡 (図12参照)

BSの石炭酸処理で得られる部分BS-phは血清学的・生物学的にComp. I-phと同じ物質である。又LSは抗Comp. I血清と沈降反応を示す事は前に証明したが、ついでLSの“lower phase solvent”処理の可溶性部分LSB(表9)を、ゾーン電気泳動で展開した。Comp. I-phに当る山は見出されず原点はLSと同様凝集するが不溶性になつた部分は0.3%EDTAで抽出されるので、抽出後硫酸安全飽和で沈澱させ、流水透析して上清を凍結乾燥することにより、抗Comp. I-ph血清と8γ/ccで沈降反応陽性のものを得た。ここに内毒素のlipopolysaccharide 部分、Comp. I-phが含まれていると考えられる。

又LSをナグーゼ処理すると全Nの47%が消化される、流水透析後内液の上清は23%の収率でえられた。Comp. Iのナグーゼ消化では全Nの25%が消化され47%の収率でComp. I-NSがえられる。この二つの物質はNPLSと共に、発熱性、毒性、沈降反応性の上では同一のものと考えられる。

考 察

菌の最も外側は凝集反応に関係した抗原が存在し、Comp. Iがこれに相当している。このlipopolysaccharide もprotein も共に抗原特異性を持ち、共に凝集反応にあづかる。又両者共生菌および表面物質をリゾチームで処理した時溶出するLS部分に存在することは今迄の実験で証明された。尚この場合、protein 部分はより高分子の蛋白質LSASとして菌体表面構造の構成にあづかっていることが実証されたわけである。

さて次の層は何かという問題であるが、前項のLS中にDAPが入っているのに、Comp. IやLSASに入っていないことから、DAPのある部分がそこに含まれていると想像される。この部分はLSからゾーン電気泳動で別け得なかつたが、表面物質をナグーゼ消化し、更にリゾチームで可溶性にしたNPLS中にもあつて、この

時はゾーン電気泳動でDAPが抗原性物質から分離失はれた。又この部分の量は、生菌のリゾチーム作用で得られるプロトプラスト表面物質PSが乾燥菌体の約25%であることから、LSが約25%と算出され、その中に含まれている Comp. I の約16%を差し引いて、残りの約9%と考えられる、この部分を Comp. V-I とした。DAPを含む部分の外に、この層に入るものとして、PSをナガーゼ消化して得られるPSNSから Comp. II を差し引いたものが約9%あると考えている。これはPSをナガーゼ消化すると核酸がすべて遊離するが、この核酸と Comp. II. とは同一のものではないかと考えて(この点は現在研究中である)算出したものである。この部分は Comp.V-II としたが、上記の部分と合せて、この18%の層をDAPを含む mucoprotein の層と考え、Comp. V と名付けた。

最後の層としては私共は図11に示したように電子顕微鏡像で二つの膜様構造を認めたので外側を Comp.IV、内側を Comp.III とした。

以上の層の構造模型は図17に示した。

Comp.I の配列については、その lipopolysaccharide も protein も凝集反応にあづかること、およびリゾチーム、ナガーゼの作用を直接受けることから図18の如く考えた方が妥当と思う。

phage を細胞壁に作用させると DAP, glucosamine, muramic acid, alanine, glutamic acid と少量の glycine,

図 17 緑膿菌表面構造の模型図

図 18 緑膿菌表面構造の模型図

lysine 結合物が溶出するが、このものはペニシリンで蓄積され、リゾチームで溶出される物質とほぼ同じであると考えられている。これはグラム陽性菌の細胞壁の基本的構成物質で、緑膿菌の場合、Comp.V に含まれていると考えられる。

この Comp.V の mucoprotein の層が一つの膜として取出しうるものであるかどうか疑問であるが、最近 Weidel が E. Coli の菌体に phenol を作用させ、桿菌の形状を保った薄膜を電子顕微鏡でとらえ、これを寒天上にはったコロジオンフィルム上でリゾチームを作用させ、電子顕微鏡的にDAPを含む mucoprotein の二つの粒子に分解することを示している⁶⁾ので、これは主として私共の Comp. V の層に相当しているのではないかと思っている。しかし桿菌の形状を保つ作用を、菌の一部

の層に帰することが出来るかどうかは難かしい問題で、Weidel はリゾチームで分解される前述の膜状部分を“Rigid layer”としているが、私共の場合、緑膿菌の60°C、30分、加熱菌体(図19)にリゾチームを作用させ、更にナガーゼを作用させたものを電子顕微鏡で極めて薄い膜としてとらえた(図20, 21)これはプロトプラスト表面物質、即ち Comp. III, Comp. IV と考えている。勿論、石炭酸法によつても Comp. I-ph は抽出されない。多分PSが加熱変性によつて、桿菌の形状を保つたものと思う。Comp.V の層は非常に変性しやすい物質であるから、この部分が桿菌の形状保持の作用をしているとするためには、更に多くの実験を必要とするように思う。

総 括

緑膿菌の表面構造を明かにするため

図 3. Comp. I, Comp. II, の電気泳動,
超遠心分析値

図 5 緑膿菌表面物質 (BS) の
電子顕微鏡写真 (12,000倍)

図 8 緑膿菌プロトプラスト表面物質 (PS) の
位相差顕微鏡写真 (3000倍)

図 9 緑膿菌プロトプラスト表面物質 (PS)
の電子顕微鏡写真 (20,000倍)

図 7 緑膿菌プロトプラストの位相差
顕微鏡写真 (3000倍)

図 10. 緑膿菌プロトプラスト表面物質 (PS)
にナガーゼ作用させた前後のウンナパツ
ベンハイム染色 (3000倍)

上. Nagarse 作用前
下. Nagarse 作用後

図 11. 緑膿菌プロトプラスト表面物質 (PS)
をナガーゼ処理したもの (PSNP) の電子
顕微鏡写真 (20,000倍)

図 15 緑膿菌表面物質 (BS) にナガーゼを作用
した後の電子顕微鏡写真 (12,000)

図 19. 緑膿菌加熱菌体(60°C 30分)の
電子顕微鏡写真(9000 倍)

図 20. 緑膿菌加熱(60°C 30分) 菌体にリゾ
チーム/EDTA, ナガーゼを作用した前の電
子顕微鏡写真(20,000倍)

図 21. 緑膿菌加熱(60°C, 30分) 菌体にリゾ
チーム/EDTA, ナガーゼを作用させた後の
電子顕微鏡写真(20,000 倍)

に, autolysate よりの内毒素 Comp. I (lipopolysaccharide-protein complex) と細胞構成成分の血清学的, 生物学的, 化学的性状を比較検討した結果, 表面構造および Comp. I の構成成分としての位置についての知見をえた。その方法および結果は次に記す。

1. カーボランダムによつて菌体を破壊し, その表面物質 (BS) を分離した。

2. 生菌にリゾチーム, EDTA を作用させプロトプラスト表面物質 (PS), プロトプラズムを分離した。

3. BS にリゾチームを作用させ, 遊離する水溶性部分 (LS) を分離し, これに lower phase solvent 処理を行うことによつて蛋白部分 (LSAS) と多糖体部分 (LSB) にわけた。LSAS は超遠心分析, 電気泳動分析で均一で, Comp. I の蛋白部分と同じ生物活性, 抗原特異性を示す, pyocine 活性をもち, その中和抗体を産生する。又 LSB 中に Comp. I の lipopolysaccharide (Comp. I-ph) と共通抗原をもつ分割の存在を証明出来た。

4. BS, PS, プロトプラズムを phenol 処理することによつて Comp. I-ph は BS 中から分離されたが, PS, プロトプラズムからは分離されなかった。

5. BS にリゾチームおよびナガーゼを作用させた実験成績およびえられた抗原物質の化学分析値, 生物活性を Comp. I-P, Comp. I-NS, LSAS 等と比較した結果, BS 中に Comp. I, PS 以外に DAP を含む mucoprotein の層の存在を認めた。

6. PS に存在する RNA はナガーゼ作用によつて遊離する。その際電子顕微鏡像で PS に二層の膜の存在を確認しえた。

7. 以上の結果から表面構造を 5 つの構成成分にわけ, その模型をえがき考察を行った。

本研究並びに続報の要旨は第15回日本細菌学会関東支部総会特別講演で発表を行ったもので総会長工藤正四郎教授に深甚の謝意を表する。緑膿菌研究について終始御協力と御激励をいただいた東大理学部江上不二夫教授並びに一門の方に衷心より感謝する。電子顕微鏡は東京医科歯科大学柏井哲夫氏により撮影されたものである。化学分析の一部は伝研化学分析室岩永道子氏により行われた。ここに重ねて謝意を表する。研究費の一部は文部省科学研究費による。

本論文の一部は昭和34年11月伝研予研集談会(東医新誌77(1), 12, 昭35), 昭和35年5月, 7月伝研予研集談会(東医新誌77(7), 449, 昭35:77(9), 509, 昭和35), 昭和35年7月, 第33回日本細菌学会総会(日細誌15(10), 1054, 1960) 昭和35年11月第15回日本細菌学会関東支部総会, 第33回日本生化学会総会(生化学32(9), 659, 1960) で発表した。

文 献

- 1) Work, E.: Biochem. J., 49, 17, 1951.
- 2) Strange, R. E., J. E. Powell: Biochem. J., 58, 80, 1954.
- 3) Armstrong, J. J., J. Baddiley, J. G. Buchanan & B. Crass: Nature, 181, 1692, 1958; Biochem. J., 76, 610, 1960.
- 4) Westphal, O.: Ann. Inst. Pasteur, 98, 790, 1960.
- 5) Strominger, J. L.: J. Biol. Chem., 234, 1520, 1959.
- 6) Weidel, W., H. Frank, & H. H. Martin: J. gen. Microbiol., 22, 158, 1960.
- 7) 本間 遜・浜村憲克・江上不二夫・直井万里子・Bull. Soc. Chim. Biol., 40, 647, 1958.
- 8) 本間 遜・浜村憲克・芦沢義郎: 日細誌, 12, 973, 1957; 芦沢義郎: 日衛誌, 15, 97, 1960.
- 9) Geobel, W. F. & G. T. Barry: J. Exp. Med., 107, 185, 1958.

昭和36年7月20日 印刷
昭和36年7月25日 発行

(会員無料配布)

日本細菌学会々員外の購読 1カ年 2,000円

東京都港区芝白金台町一丁目 伝染病研究所内

発行兼
編集者 秋葉 朝一郎

東京都品川区上大崎三丁目三〇〇番地

印刷者 向 喜 久 雄

東京都品川区上大崎三丁目三〇〇番地

印刷所 一ツ橋印刷株式会社

東京都港区芝白金台町一丁目 伝染病研究所内

発行所 日本細菌学会

振替口座東京 164352